

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2001-198214

(43)Date of publication of application : 24.07.2001

(51)Int.Cl. A61M 1/34
 A61K 35/14
 A61M 1/02
 A61M 1/36

(21)Application number : 2000-010993

(71)Applicant : ASAHI MEDICAL CO LTD

(22)Date of filing : 19.01.2000

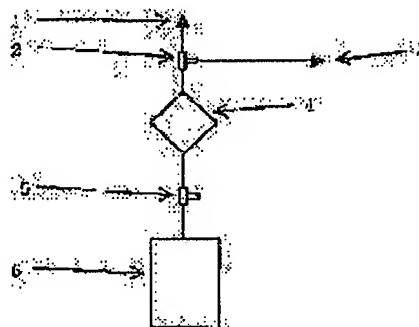
(72)Inventor : SUMIDA MASAYA
 SAIKAWA SATOSHI

(54) LEUCOCYTE REMOVING/RECOVERING FILTER APPARATUS AND SYSTEM AND KIT USING THE SAME

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a leucocyte removing/recovering filter apparatus used for removing and recovering a leucocyte, made easy to perform aseptic operation and improved in convenience to a large extent.

SOLUTION: In the leucocyte removing/recovering filter apparatus, a means for connecting a leucocyte recovering fluid introducing means is provided on the upstream side of a leucocyte removing filter 4 and a means for connecting a leucocyte-containing liquid recovering means is provided on the downstream side thereof or a means 5 for connecting the leucocyte recovering fluid introducing means is provided on the downstream side of the leucocyte removing filter 4 and a means 3 for connecting the leucocyte-containing liquid recovering means is provided on the upstream side thereof.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号
特開2001-198214
(P2001-198214A)

(43) 公開日 平成13年7月24日 (2001.7.24)

(51) Int.Cl.	識別記号	F I	キーワード (参考)
A 6 1 M 1/34	5 0 0	A 6 1 M 1/34	5 0 0 4 C 0 7 7
A 6 1 K 35/14		A 6 1 K 35/14	C 4 C 0 8 7
A 6 1 M 1/02	5 4 0	A 6 1 M 1/02	5 4 0
1/36	5 4 0	1/36	5 4 0

審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 7 頁)

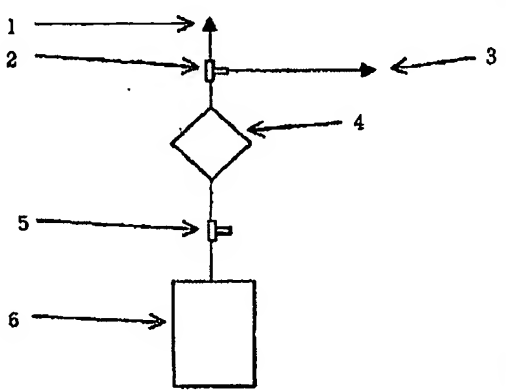
(21) 出願番号	特願2000-10993(P2000-10993)	(71) 出願人	000116806 旭メディカル株式会社 東京都千代田区神田美土代町9番地1
(22) 出願日	平成12年1月19日 (2000.1.19)	(72) 発明者	澄田 政哉 大分県大分市大字里2111番地2号 旭メ ィカル株式会社内
		(72) 発明者	才川 聡 東京都千代田区神田美土代町9番地1 旭 メディカル株式会社内
		(74) 代理人	100087103 弁理士 佐々木 俊哲 Fターム (参考) 4C077 AA09 BB02 CC03 HH03 HH17 JJ03 JJ18 KK11 NN02 4C087 AA05 BB34 DA18 MA66

(54) 【発明の名称】 白血球除去・回収フィルター装置、システムおよびキット

(57) 【要約】

【課題】 白血球除去用途のみならず、白血球回収への用途をも意図した、無菌的操作が行いやすい等、大幅に利便性が改善された白血球除去・回収フィルター装置を提供する。

【解決手段】 白血球除去フィルター4の上流に白血球回収用流体導入手段を接続するための手段を、下流に白血球含有液回収手段を接続するための手段を設けるか、または下流に白血球回収用流体導入手段を接続するための手段5を、上流に白血球含有液回収手段を接続するための手段3を設けたことを特徴とする白血球除去・回収フィルター装置。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 白血球除去フィルターの上流に白血球回収用流体導入手段を接続するための手段を、下流に白血球含有液回収手段を接続するための手段を設けるか、または下流に白血球回収用流体導入手段を接続するための手段を、上流に白血球含有液回収手段を接続するための手段を設けたことを特徴とする白血球除去・回収フィルター装置。

【請求項2】 白血球除去フィルターの上流側に白血球回収用流体導入手段を、下流側に白血球含有液回収手段を設けるか、または下流側に白血球回収用流体導入手段を、上流側に白血球含有液回収手段を設けたことを特徴とする白血球除去・回収システム。

【請求項3】 さらに白血球回収用流体導入手段に押圧を与える、圧力伝達手段と圧力負荷手段からなる押圧手段を含む、請求項2に記載の白血球除去・回収システム。

【請求項4】 使用済み白血球除去フィルターの血液導入口側または血液導出口側に接続可能な白血球回収用流体導入手段と、血液導出口側または血液導入口側に接続可能な白血球含有液回収手段を少なくとも含む、使用済み白血球除去フィルターを利用するためのキット。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は白血球除去血液製剤と各種用途に用いる白血球の両方が得られる白血球除去・回収フィルター装置、システムおよびキットに関する。本発明で得られる白血球除去血液は輸血に、白血球は有用物質の生産や白血球を用いて行う各種疾病の治療及び免疫学や細胞生物学等の基礎科学分野で用いることが可能となる。

【0002】

【従来の技術】 白血球は培養することで種々の有用物質を生産することが知られている。また、白血球そのものにも細胞膜、核などに種々の有用物質が含まれている。一方、近年、輸血の安全性向上への意識が高まり、輸血副作用（ウイルス等の病原体に感染した白血球による感染症を含む）を防止するために輸血用血液のいわゆる

「100%白除化」（全ての輸血用血液はフィルターによる白血球除去を適用すること）へ移行する趨勢である。このような状況に伴い、白血球除去フィルターの使用量は大幅に拡大すると見込まれている。従来、使用済み白血球除去フィルターは医療用廃棄物として、廃棄され、焼却されるのみであった。ところで、従来インターフェロンは輸血用血液から遠心分離によるパフィーコート除去法で赤血球濃厚液を調製する際に得られるパフィーコートから白血球を分離して生産されているものが多かった。たとえば米国特許5503828号公報にはヒト末梢血白血球からのアルファインターフェロンの製造方法が開示されている。同公報ではヒト末梢血を遠心分

離してパフィーコート層を採取し、塩化アンモニウムで残存する赤血球を溶血させ、除去することで培養原料細胞の白血球を得ることが開示されている。ここで、前述の100%白除化に伴い、パフィーコート除去法は実施されなくなる可能性があるため、インターフェロン生産に必要な白血球の供給不足が危惧される。国際公開特許WO98/45413号公報には稀な細胞（白血球を例示）を含む血液を多孔質体に通液し、稀な細胞を捕捉させ、該細胞の生産物（インターフェロンを例示）を培養により生産するために、該多孔質体に培地を供給し、捕捉された細胞を多孔質に捕捉させたまま培養することが開示されている。しかしながら、同公報は、インターフェロン生産用に白血球を全血から分離、捕捉することが目的であり、白血球除去輸血用血液と培養原料用白血球を一度に得ることに關しては一切言及されていない。このような状況に伴い、今後大量に廃棄されることが予想される輸血用白血球除去フィルターを有効活用しようという動きも見られる。国際公開特許WO99/32211号公報には、使用済みの白血球除去フィルターに赤血球溶血剤を導入して、白血球を回収することが開示されている。しかしながら、同公報には使用済み白血球除去フィルターに液体をいかに導入するかについては全く記載されていない。実施例から推察するに、使用済み白血球除去フィルター（出口側に接続されていた白血球除去後血液製剤入りバッグが切り離されて、チューブ先端はヒートシールされていると推察される）の出口側のチューブ先端を切断し、その先端を回収用液体の入った容器に入れ、チューブをペリスタポンプにセットし20～90rpmで送液（ペリスタポンプを用いて20～90rpmで送液するという記載は実施例中にある）し、一方、フィルター入口側もチューブを切断し、遠沈管に受けているものと考えられる。これらのフィルターは、そもそも輸血用血液からの白血球除去のみが目的であるため、該用途に用いるには多くの不都合がある。たとえば、前述のような使用方法では、多くが完全開放系の操作となるため無菌性に問題があった。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】 本発明の目的は白血球除去用途のみならず、初めから白血球回収への用途をも意図した装置とすることによって、無菌的操作が行いやすい等、大幅に利便性が改善された白血球除去・回収フィルター装置を提供することにある。

【0004】

【課題を解決するための手段】 本発明者らはかかる問題点を解決すべく、鋭意検討を進めた結果、本発明を完成するに至った。すなわち本発明は、白血球除去フィルターの上流に白血球回収用流体導入手段を接続するための手段を、下流に白血球含有液回収手段を接続するための手段を設けるか、または下流に白血球回収用流体導入手段を接続するための手段を、上流に白血球含有液回収手

段を接続するための手段を設けたことを特徴とする白血球除去・回収フィルター装置であり、また本発明は白血球除去フィルターの上流側に白血球回収用流体導入手段を、下流側に白血球含有液回収手段を設けるか、または下流側に白血球回収用流体導入手段を、上流側に白血球含有液回収手段を設けたことを特徴とする白血球除去・回収システムであり、さらに本発明は使用済み白血球除去フィルターの血液導入口側または血液導出口側に接続可能な白血球回収用流体導入手段と、血液導出口側または血液導入口側に接続可能な白血球含有液回収手段を少なくとも含む、使用済み白血球除去フィルターを利用するためのキットである。

【0005】以下、本発明を詳細に説明する。本発明で言う白血球除去フィルターとは、輸血用白血球除去血液製剤を製造するために血液（全血だけでなく赤血球製剤、血小板製剤を含む）を濾過するフィルターのことである。本発明では血液濾過後の白血球除去フィルターから、該フィルターに捕捉されている白血球を回収して各種用途に用いるが、その用途としては該白血球の培養による有用物質の生産、該白血球からの有用物質の抽出、該白血球からの治療用細胞製剤の製造、該白血球からの研究用細胞の製造があげられる。ここで、該白血球の培養による有用物質の生産とは、回収した白血球を培養装置に移し、培地中で培養することでインターフェロンなどの有用物質を生産することを言い、培地の組成はいかなる物質を生産するかにより適宜選択される。また、白血球全体をそのまま培養に供する以外にさらなる細胞分離により顆粒球、好中球、好塩基球、好酸球、リンパ球、Tリンパ球、ヘルパーTリンパ球、細胞傷害性Tリンパ球、サブレッサーTリンパ球、Bリンパ球、NK細胞、単球、樹状細胞、造血幹／前駆細胞、間葉系幹／前駆細胞（stroma stem cellまたはmesenchymal stem cell）などの亜分面に分離してから用いることも含まれる。該白血球からの有用物質の抽出とはたとえば細胞膜、細胞質、核などから各種タンパク質、ペプチド、DNAなどを抽出することがあげられる。また、白血球全体から抽出する以外にさらなる細胞分離により顆粒球、好中球、好塩基球、好酸球、リンパ球、Tリンパ球、ヘルパーTリンパ球、細胞傷害性Tリンパ球、サブレッサーTリンパ球、Bリンパ球、NK細胞、単球、樹状細胞、造血幹／前駆細胞、間葉系幹／前駆細胞（stroma stem cellまたはmesenchymal stem cell）などの亜分面に分離してから有用物質の抽出に用いることも含まれる。治療用細胞製剤の製造とは、細胞そのもの（培養による増幅や活性化などを含む）を輸注する細胞療法（目的としては癌治療、感染症治療などがあげられるがこれらに限定されるものではない）において用いる細胞製剤の製造のことを言い、また、白血球全体をそのまま用いる以外にさらなる細胞分離により顆粒

球、好中球、好塩基球、好酸球、リンパ球、Tリンパ球、ヘルパーTリンパ球、細胞傷害性Tリンパ球、サブレッサーTリンパ球、Bリンパ球、NK細胞、単球、樹状細胞、造血幹／前駆細胞、間葉系幹／前駆細胞（stroma stem cellまたはmesenchymal stem cell）などの亜分面に分離してから治療用細胞製剤の製造に用いることも含まれる。研究用細胞の製造とは、白血球の機能・形態などの研究や、特開平5-133957号公報で開示されているフローサイトメトリーにおける精度管理用（コントロール）細胞の製造などのことを言うが、これらに限定されるものではない。

【0006】本発明による白血球除去・回収フィルター装置では白血球回収用流体導入手段を接続するための手段と白血球含有液回収手段を接続するための手段が設けられているが、本発明で言う白血球回収用流体導入手段を接続するための手段とは、白血球回収用流体導入手段が何であるかにより、以下の様に分けられる。すなわち、白血球回収用流体導入手段がシリンジ（オスルアー口）である場合、チューブの途中に設けられた、T字管や三方活栓などメスルアー口を有するものであり、チューブ付きシリンジまたはバッグ（シリンジまたはバッグに接続可能なルアー付きチューブやスパイク付きチューブを含む）である場合、チューブからT字管、Y字管または三方活栓により分岐した新たなチューブである。白血球回収用流体導入手段がチューブ付きシリンジまたはバッグである場合、無菌接続器（以下SCD）により接続する。また、穿刺可能なポートを持つバッグまたはボトルの場合、スパイクまたは金属針である。また、ここで言う白血球含有液回収手段を接続するための手段とは、白血球含有液回収手段が何であるかにより、以下の様に分けられる。すなわち、白血球含有液回収手段がシリンジ（オスルアー口）である場合、チューブの途中に設けられた、T字管や三方活栓などメスルアー口を有するものであり、チューブ付きシリンジまたはバッグ（シリンジまたはバッグに接続可能なルアー付きチューブやスパイク付きチューブを含む）である場合、チューブからT字管、Y字管または三方活栓により分岐した新たなチューブである。また、穿刺可能なポートを持つバッグまたはボトルの場合、スパイクまたは金属針である。次に本発明による白血球除去・回収フィルター装置の使用方法について、一実施態様の模式図である図1を用いて説明する。なお、本装置は通常の白血球除去フィルター装置に白血球回収用流体導入手段を接続するための手段と、白血球含有液回収手段を接続するための手段を、それぞれ白血球除去フィルターの下流と上流に付加したものである。まず、白血球含有液回収手段を接続するための手段たるスパイク3に白血球含有液回収手段である空の血液バッグを刺し、次に三方活栓2はスパイク1と白血球除去フィルター4のみが連通するように、白血球回

収用流体導入手段を接続するための手段たる三方活栓5は白血球除去フィルター4と血液バッグ6のみが連通するようにしておく。次に白血球を含有する血液の入ったバッグをスパイク1に刺して血液を濾過し、白血球除去血液を血液バッグ6に回収する。次に、白血球回収用流体の入った、白血球回収用流体導入手段たるシリンジを三方活栓5に接続し、三方活栓2は白血球除去フィルターとスパイク3のみが連通するように、三方活栓5はシリンジと白血球除去フィルター4のみが連通するようにする。シリンジのプランジャーを手で勢よく押すと白血球除去フィルター4に捕捉されている白血球はスパイク3に接続されたバッグに回収される。血液バッグ6に回収された白血球除去血液は輸血などに、スパイク3に接続されたバッグに回収された白血球は該白血球の培養による有用物質の生産、該白血球からの有用物質の抽出、該白血球からの治療用細胞製剤の製造、該白血球からの研究用細胞の製造などに用いられる。

【0007】また、本発明の白血球除去・回収システムでは白血球除去フィルター装置に白血球回収用流体導入手段と白血球含有液回収手段が設けられているが、ここで白血球回収用流体導入手段とはチューブの途中に設けられたT字管、Y字管や三方活栓などで分岐したチューブの先端に接続されるシリンジやバッグ、ボトルなどの容器であり、予め容器の中に液体をいれておいてもよい。また、白血球含有液回収手段とはT字管、Y字管や三方活栓などで分岐したチューブの先端に接続されるシリンジやバッグ、ボトルなどの容器のことを言う。白血球回収用流体は、たとえば細胞の機能を維持したまま回収したい場合は生理食塩水やダルベッコリン酸緩衝液、ハンクス液などの緩衝液またはRPMI 1640などの培地に代表される生理的溶液を、回収と同時に細胞を破壊して細胞の構成成分を回収したい場合には界面活性剤等の白血球溶血剤を、培養による有用物質の生産に利用したい場合は当該培養に用いる培地を、培養により別の細胞に分化誘導させたい場合は当該培養に用いる分化誘導薬剤（例えば樹状細胞への分化誘導ならIL4とGM-CSFなど）を用いるといった具合に、目的により適宜選択する。また、ここで言う白血球回収用流体とは液体単体のみならず、空気、アルゴン、窒素など細胞に悪影響を及ぼさない気体を混合したものも含まれる。次に上記した本発明の白血球除去・回収システムの使用方法について、一実施態様の模式図である図2を用いて説明する。なお、本システムは通常の白血球除去フィルター装置に白血球回収用流体導入手段と、白血球含有液回収手段を、それぞれ白血球除去フィルターの下流側と上流側に付加したものである。まず、三方活栓2はスパイク1と白血球除去フィルター4のみが連通するように、三方活栓5は白血球除去フィルター4と血液バッグ6のみが連通するようにしておく。次に白血球を含有する血液の入ったバッグをスパイク1に刺して血液を濾過し、白

血球除去血液を血液バッグ6に回収する。次に、三方活栓2は白血球除去フィルター4と白血球含有液回収手段たる空の血液バッグ7のみが連通するように、三方活栓5は白血球回収用流体導入手段たる回収液の入ったシリンジ8と白血球除去フィルター4のみが連通するようにする。シリンジのプランジャーを手で勢よく押すと白血球除去フィルター4に捕捉されている白血球は空の血液バッグ7に回収される。血液バッグ6に回収された白血球除去血液は輸血などに、血液バッグ7に回収された白血球は該白血球の培養による有用物質の生産、該白血球からの有用物質の抽出、該白血球からの治療用細胞製剤の製造、該白血球からの研究用細胞の製造などに用いられる。本発明による白血球除去・回収システムには、さらに白血球回収用流体導入手段に押圧を与える押圧手段を含んでもよい。ここで、押圧手段は圧力伝達手段と圧力負荷手段からなるが、圧力伝達手段としてはピストン、平板、ラック・ピニオン、ギヤなどがあり、圧力負荷手段としては機械バネ、圧縮気体、モーターがある。圧力負荷手段で発生した力は圧力伝達手段を通じ（圧力負荷手段がモーターなど回転運動体の場合、圧力伝達手段で回転運動が直線運動に変換される）白血球回収用流体導入手段に伝達され同導入手段に押圧が付与される。白血球回収用流体導入手段がバッグの場合、これが押しつぶされることにより、また白血球回収用流体導入手段がシリンジの場合、プランジャーが押されることで白血球回収用流体が白血球除去フィルターに導入され、捕捉されている白血球が白血球含有液回収手段に回収される。なお、極めて多量の白血球回収操作を行う場合は手で白血球回収用流体導入手段を押すのは肉体的に過酷な作業となりうるので、押圧手段を利用することが好ましいと考える。

【0008】本発明のキットにおける使用済み白血球除去フィルターの血液導入口側または血液導出口側に接続可能な白血球回収用流体導入手段とは、白血球除去フィルターの上流または下流に接続され、該白血球除去フィルターに白血球回収用流体を導入するものであり、白血球除去フィルターに導入する白血球回収用流体を入れた容器を白血球回収用流体導入手段に予め接続しておくか、後から接続可能とするかにより、また、白血球回収用流体の注入手段により以下の様に分類される。すなわち、容器を予め白血球回収用流体導入手段に接続しておく場合は、上記回路としてはバッグ付きチューブ、シリンジ付きチューブ等があげられる。これらのチューブ（以下本チューブと言う）はたとえばSCDでフィルターの上流または下流に接続できる。もちろん、無菌性が問題とならない場合はフィルターに接続されているチューブを切断あるいは取り外して、本チューブを挿入してもよい。バッグの場合、送液方法としてはバッグを押しつぶす方法、ローラーポンプを用いる方法、落差による方法、またシリンジが接続された分岐した流路を設け、

シリンジにいったん吸引し、シリンジのプランジャーを押して注入する、などがあげられる。シリンジの場合、送液方法としてはプランジャーを手で押す、シリンジポンプなどの装置で押す、があげられる。容器を後から流体導入手段に接続する場合のうち、容器としてシリンジを用いる場合はシリンジの針で穿刺可能なセプタム付きチューブ、ルアーアダプター（メス）付きチューブ、三方活栓付きチューブ等があげられる。これらのチューブはたとえばSCDでフィルターの上流または下流に接続できる。もちろん、無菌性が問題とならない場合はフィルターに接続されているチューブを切断あるいは取り外して、本チューブを挿入してもよい。容器としてバッグを用いる場合はバッグと接続可能な回路、すなわちスパイク付きチューブ、ルアーアダプター（オス、メス）付きチューブ、あるいはSCD接続を行うのであれば単なるチューブがあげられる。容器がボトルの場合は金属針付きチューブがあげられる。これらのチューブはたとえばSCDでフィルターの上流または下流に接続できる。もちろん、無菌性が問題とならない場合はフィルターに接続されているチューブを切断あるいは取り外して、本チューブを挿入してもよい。なお、これらのチューブをフィルターの上流側に接続した場合は、後述の、白血球含有液回収手段は下流側に接続することになり、これらのチューブを下流側に接続した場合は白血球含有液回収手段は上流側に接続することになる。送液方法としては、前記の容器を接続していない場合と同様、バッグを押しつぶす方法、ローラーポンプを用いる方法、落差による方法、またシリンジが接続された分岐した流路を設け、シリンジにいったん白血球回収用流体を吸引し、シリンジのプランジャーを押して注入する、などがあげられる。シリンジの場合、送液方法としてはプランジャーを手で押す、シリンジポンプなどの装置で押す、があげられる。

【0009】本発明のキットにおける使用済み白血球除去フィルターの血液導出口側または血液導入口側に接続可能な白血球含有液回収手段とは、白血球除去フィルターの下流または上流に接続され、該白血球除去フィルターから前述の白血球回収用流体を導入して捕捉状態が解かれた白血球含有液を回収するものであり、回収された白血球含有液を貯留する容器を予め白血球含有液回収手段に接続しておくか、後から接続可能とするかにより以下の様に分類される。すなわち、容器を予め白血球含有液回収手段に接続しておく場合は、上記回路としてはバッグ付きチューブ、シリンジ付きチューブ等があげられる。これらのチューブはたとえばSCDでフィルターの下流または上流に接続できる。もちろん、無菌性が問題とならない場合はフィルターに接続されているチューブを切断あるいは取り外して、本チューブを挿入してもよい。なお、回収白血球を回収後に培養に供する場合、培養器（培養バッグなど）を接続しておくこともできる。

容器を後から白血球含有液回収手段に接続する場合のうち、容器としてシリンジを用いる場合はシリンジの針で穿刺可能なセプタム付きチューブ、ルアーアダプター

（メス）付きチューブ、三方活栓付きチューブ等があげられる。これらのチューブはたとえばSCDでフィルターの下流または上流に接続できる。容器としてバッグを用いる場合はバッグと接続可能な回路、すなわちスパイク付きチューブ、ルアーアダプター（オス、メス）付きチューブ、あるいはSCD接続を行うのであれば単なるチューブがあげられる。容器として遠心管や試験管を用いる場合はスパイクや金属針チューブが用いられる。容器がボトルの場合は金属針付きチューブがあげられる。また、回収後に培養に供する場合、培養器（培養バッグなど）と接続可能な端子を付けておくこともできる。これらのチューブはたとえばSCDでフィルターの下流または上流に接続できる。もちろん、無菌性が問題とならない場合はフィルターに接続されているチューブを切断あるいは取り外して、本チューブを挿入してもよい。

【0010】次に本発明によるキットの使用方法について、一実施態様の模式図である図4を用いて説明する。図4は本発明の実施態様の一例であり、予め白血球回収用流体が含有されたシリンジ付きチューブを白血球回収用流体導入手段として、血液バッグを白血球含有液回収手段として用いるものである。図4において9は白血球回収用流体の入ったシリンジであり、シリンジの口にはチューブ10が接続されており、その先端は閉鎖されている。11は空の白血球含有液回収手段であり、先端にスパイクを有するチューブ12が血液バッグ本体から出ている。次に使用方法を説明する。4の使用済み白血球除去フィルターの出口側チューブ13を予めカンシで止め、カンシと白血球除去フィルターの間にSCDを用いてチューブ10を接続する。次にカンシで白血球除去フィルターの入口側チューブ14をカンシで止め、カンシと白血球除去フィルターの間にSCDを用いてチューブ12を接続する。次にシリンジを手で勢よく押すことで、白血球回収用流体を使用済み白血球除去フィルター4に導入し、捕捉されていた白血球を白血球含有液回収手段11に回収する。なお、キットにおいては白血球回収用流体を予め流体収納容器に入れておいてもよく、また別の容器に入った液体をキットの中に含めてもよい。また、白血球回収用流体導入時に、白血球除去フィルターにのみ流体が注入され、白血球含有液回収手段にのみ白血球含有液が回収されるように、不要な流路を遮断するカンシやクランプをキットに含めても良いし、含めなくても良い。

【0011】

【実施例1】本実施例では白血球除去フィルターに白血球回収用流体導入手段を接続するための手段と、白血球含有液回収手段を接続するための手段と、それぞれ白血球除去フィルターの下流と上流に付加した白血球除去・

回収フィルター装置を用いた。

1. 白血球除去・回収フィルター装置および白血球除去血液の調製

図1の白血球除去・回収フィルター装置を用い、赤血球濃厚液1単位を濾過し、6の血液バッグに白血球除去濃厚赤血球液を回収した。なお、白血球除去フィルターは旭メディカル社製セパセルRZ200を用いた。

2. 捕捉白血球の回収

白血球含有液回収手段を接続するための手段たるスパイク3に白血球含有液回収手段たる空の血液バッグを接続した。次に白血球回収用流体導入手段たる、100ml生理食塩水溶液の入ったシリンジを白血球回収用流体導入手段を接続するための手段たる三方活栓5に接続し、シリンジを勢いよく押すことで、スパイク3に接続してある空の血液バッグに白血球を回収した。

3. 評価

白血球数はシスメックス社製多項目自動血球分析装置SF3000を用いて測定、回収した白血球含有液の無菌試験は関東化学社製「オクソイド血液培養システムSIGNAL」により行った。

4. 結果

結果のまとめを表1に示す。

【表1】

濾過前白血球数	回収後白血球数	無菌試験
1.5×10^9	2.1×10^8	陰性

【0012】

【比較例1】1. 白血球除去・回収フィルター装置および白血球除去血液の調製

市販の白血球除去フィルター装置（旭メディカル社製RZ200AW）を用い、赤血球濃厚液1単位を濾過し、白血球除去濃厚赤血球液を回収した。

2. 捕捉白血球の回収

フィルター出口側のチューブを切断し、チューブの切断面に100ml生理食塩水溶液入りシリンジの口を挿入した。また、フィルター入口側のチューブを切断し、先端をコニカルチューブの中にたらしした。シリンジを勢いよく押すことで白血球をコニカルチューブに回収した。なお、チューブの径に比し、シリンジの口が細く隙間があいているためリークの可能性があり、シリンジを押す際にはシリンジの口が挿入されたチューブをしっかりと押さえる人手を必要とした。

3. 評価

白血球数はシスメックス社製多項目自動血球分析装置SF3000を用いて測定、回収した白血球含有液の無菌試験は関東化学社製「オクソイド血液培養システムSIGNAL」により行った。

4. 結果

結果のまとめを表2に示す。

【表2】

濾過前白血球数	回収後白血球数	無菌試験
1.5×10^9	2.1×10^8	陽性

【0013】

【実施例2】本実施例は使用済み白血球除去フィルターの血液導入口側に接続可能な白血球含有液回収手段と、血液導出口側に接続可能な白血球回収用流体導入手段からなるキットを用いたものである。使用済み白血球除去フィルター（旭メディカル製セパセルRZ200AW）の出口側チューブ13をカンシで止め、カンシと使用済み白血球除去フィルターの血液導出口の間にSCDを用いて白血球回収用流体導入手段たるシリンジ付きチューブ（シリンジには生理食塩水100mlを含む）を接続する。次に使用済み白血球除去フィルターの入口側チューブ14をカンシで止め、カンシと使用済み白血球除去フィルターの血液導入口の間に白血球含有液回収手段たる空の血液バッグ付きチューブをSCDで接続した。次にシリンジのプランジャーを手で押し、生理食塩水を使用済み白血球除去フィルターに導入し空の血液バッグに白血球浮遊液を回収した。なお、同フィルターは赤血球濃厚液（RC-MAP）1単位を濾過したものである。白血球回収率は約14%であった（シスメックス社製多項目自動血球分析装置SF3000を用いて測定）。得られた白血球浮遊液を5ml分取し10%SDS（ドデシル硫酸ナトリウム）を加えて細胞を破壊し、粗DNAを遠沈管に回収した。回収したDNAは常法であるプロテアーゼKによる除タンパクとフェノール・クロロホルム法により精製した。精製DNAを分光光度計により260nmの吸光度を測定する常法（中山、他：細胞工学別冊「バイオ実験イラストレイテッド」①分子生物学実験の基礎、1995年）で測定したところ、189μgのDNAが回収できていることが分かった。結果のまとめを表3に示す。

【表3】

濾過前白血球数	回収後白血球数	分取白血球数	DNA収量
1.5×10^9	2.1×10^8	1.05×10^7	189 μ g

【0014】

【発明の効果】以上示したように本発明によれば白血球除去用途のみならず、初めから白血球回収への用途をも意図した装置が提供できるので、無菌的操作が行いやすい等、大幅に利便性が改善される。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の「白血球除去・回収フィルター装置」の模式図である。

【図2】本発明の「白血球除去・回収システム」の模式図である。

【図3】本発明の「白血球除去・回収システム」の別の模式図である。

【図4】本発明の「使用済み白血球除去フィルターを利用するためのキット」の模式図である。

【符号の説明】

1 スパイク

2 三方活栓

3 スパイク

4 白血球除去フィルター

5 三方活栓

6 血液バッグ

7 血液バッグ

8 シリンジ

9 シリンジ

10 チューブ

11 血液バッグ

12 チューブ

13 出口側チューブ

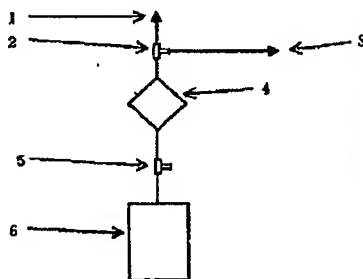
14 入口側チューブ

15 押圧手段

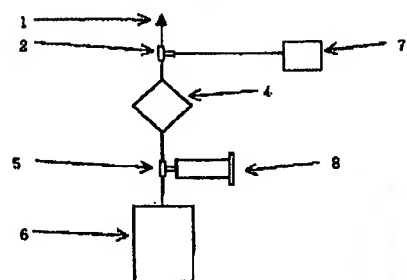
16 圧力伝達手段

17 圧力負荷手段

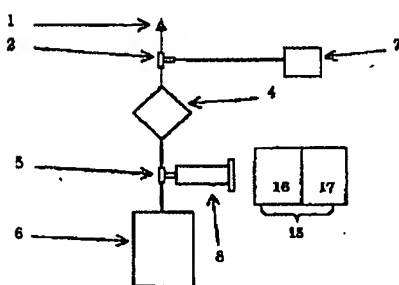
【図1】



【図2】



【図3】



【図4】

